

Обзоры, проблемы, итоги

УДК 636.01+502.74):57.086.13

doi: 10.15389/agrobiology.2014.6.3rus

КРИБАНКИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ СПОСОБ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ЖИВОТНЫХ*
(обзор)

Г.Н. СИНГИНА, Н.А. ВОЛКОВА, В.А. БАГИРОВ, Н.А. ЗИНОВЬЕВА

Вымирание многих видов необратимо и представляет собой часть естественной эволюции, однако деятельность человека повлияла на этот процесс, сделав его гораздо быстрее видообразования. По данным ФАО, примерно 20 % мировых пород крупного рогатого скота, коз, свиней, лошадей и птицы в настоящее время находятся под угрозой исчезновения, многие вымерли в течение последних нескольких лет, в результате чего их генетические характеристики потеряны навсегда. Роль банков генетических ресурсов в управлении и сохранении исчезающих видов особенно заметна в последнее десятилетие. Большинство криобанков фокусирует внимание на криоконсервации гамет (в первую очередь спермы) и эмбрионов. Их основная цель состоит в получении потомства с использованием вспомогательных репродуктивных технологий, которые включают в себя искусственное оплодотворение, экстракорпоральное оплодотворение и трансплантацию эмбрионов. Открытие феномена репрограммирования ядер соматических клеток позволило расширить спектр форм биоматериала в программах по криоконсервации. Создание криобанков соматических клеток — доноров ядер для клонирования рассматривается как вспомогательный инструмент сохранения и улучшения генофонда сельскохозяйственных животных и птицы. Для создания жизнеспособных криоконсервированных клеточных линий достаточно небольшого количества биопсийного материала, в том числе от умершего животного, но при этом такие линии содержат полный геном и протеом. В отличие от половых клеток и эмбрионов, а также от генеративных тканей криоконсервированные соматические клетки после многократного размораживания способны к регенерации, то есть могут практически бесконечно служить источником биоматериала как для использования во вспомогательных репродуктивных технологиях, так и для биологических исследований, в том числе ретроспективных. Кроме того, из-за небольшого размера соматические клетки более устойчивы к криоконсервации. В настоящем обзоре дано краткое описание основ и истории клонирования. Обсуждаются преимущества использования различных типов клеток в качестве кариопластов. В частности, известно, что для производства клонированных животных можно использовать практически любые типы клеток (эмбриональные клетки, клетки молочной железы, кумулюса, гранулезы, яйцевода, печени, фибробласты, лейкоциты и эмбриональные стволовые клетки), но эффективность клонирования при этом существенно зависит от типа клеток. Наиболее результативно с точки зрения эмбрионального развития и рождения живого потомства клонирование с использованием фетальных фибробластов в качестве доноров ядерного материала. Альтернативным источником ядер при клонировании могут быть стволовые клетки. Полностью репрограммировать ядро стволовой или прогениторной клетки (то есть стволовой, детерминированной на дифференцировку в определенный тип клеток) легче, чем терминально дифференцированной, также показано, что при использовании в качестве кариопласта ядер стволовых клеток значительно увеличивается число получаемых клонированных эмбрионов. Дискутируются успехи в области межвидового клонирования как стратегии восстановления редких и исчезающих видов животных. На многочисленных примерах показано, что соматические клетки могут рассматриваться в качестве наиболее перспективного материала для восстановления генетических ресурсов животных разных видов. Так, с 1997 по 2012 годы с использованием дифференцированных соматических клеток были получены домашние и дикие животные разных видов: овцы, мыши, коровы, козы, свиньи, гуар, муфлон, домашняя кошка, кролики, мул, лошадь, крыса, дикая кошка, собака, бантенг, хорек, волк, буйвол, благородный олень, горный козел, верблюд, койот. Лидером по клонированию пока остается крупный рогатый скот, результативность рождения потомства у которого в среднем составляет 10, а в ряде случаев 25 %. Для большинства других животных этот показатель пока что не превышает 1 %. В стандартизированной окружающей среде, которая может достигаться в хозяйствах с хорошей системой управления, продуктивность клонов должна различаться только в пределах остающейся природной изменчивости и обусловленной технологией клонирования митохондриальной генетической изменчивости.

Ключевые слова: соматические клетки, криобанки, клонирование, биоразнообразие, генетические ресурсы животных.

* Исследования выполнены при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, шифр проекта 2013-1.2-14-512-0045-047.

Вымирание некоторых видов млекопитающих необратимо и представляет собой часть естественной эволюции. Однако из-за деятельности человека, приводящей к разрушению среды обитания, неконтролируемого использования охотничье-промысловых ресурсов, конкуренции животных за зоны питания этот процесс происходит гораздо быстрее, чем видообразование (1). Меняющиеся требования рынка и интенсификация сельского хозяйства также усилили тенденцию сокращения биоразнообразия домашних животных. В сельском хозяйстве небольшие производственные системы постепенно сменяются крупными коммерческими структурами. Современные репродуктивные технологии, неограниченные возможности перемещения генетического материала, а также селекционные программы, проводимые национальными и международными компаниями, приводят к доминированию некоторых пород (2). По данным ФАО, примерно 20 % мировых пород крупного рогатого скота, коз, свиней, лошадей и птицы в настоящее время находятся под угрозой исчезновения. Многие породы вымерли в течение последних нескольких лет, в результате чего их генетические характеристики потеряны навсегда (3). В связи с этим в целях обеспечения биобезопасности, а также экологической и продовольственной безопасности крайне важно поддерживать биоразнообразие и сохранять альтернативные и потенциально полезные гены в генофонде (4). Понимание серьезности проблемы привело к тому, что в 2007 году 109 стран утвердили глобальный план сохранения генетических ресурсов животных (Global Plan of Action for Animal Genetic Resources) (5).

В идеале сохранение численности животных должно происходить *in situ*, когда она поддерживается в тех условиях среды или системах производства, в которых они были получены. Однако такой подход нуждается в обширной инфраструктуре и управлении и, следовательно, достаточно затратен. Кроме того, он зачастую оказывается недостаточным для распространения малых популяций, а также для поддержания адекватного генетического разнообразия (2). Дополнительным к *in situ* современным приемом сохранения животных, способным решить перечисленные проблемы, служит создание банков генетических ресурсов (6-8).

Роль банков генетических ресурсов, где собран, обрабатывается и хранится биологический материал, в управлении и сохранении исчезающих видов особенно заметна в последнее десятилетие (9). При правильном использовании резервы банков способны как сохранять текущее генетическое разнообразие популяций, так и обеспечивать их репродукцию с использованием различных биотехнологических методов в будущем (10). Центральная проблема при создании таких банков заключается в определении количества и типа генетического материала. Большинство криобанков фокусирует свое внимание на криоконсервации гамет (в первую очередь спермы) и эмбрионов. Их основная цель состоит в получении потомства с использованием вспомогательных репродуктивных технологий, которые включают в себя искусственное оплодотворение, экстракорпоральное оплодотворение и трансплантацию эмбрионов (11). Однако открытие феномена репрограммирования ядер соматических клеток позволило расширить спектр форм биоматериала в программах по криоконсервации. В настоящее время создание криобанков соматических клеток — доноров ядер для клонирования рассматривается как вспомогательный инструмент сохранения и улучшения генофонда сельскохозяйственных животных и птицы (12).

Метод культивирования и замораживания соматических клеток позволяет получать от одного животного и в последующем сохранять многие

годы сотни миллионов клеток, что сравнимо по масштабам с культурами микроорганизмов. Для эффективного культивирования соматических клеток созданы специальные питательные среды достаточно сложного состава, включающие наборы аминокислот, витаминов, сахаров с добавлением сыворотки крови, содержащей многие ростовые факторы. Определены условия культивирования в термостатах с фиксированной концентрацией CO₂ в воздухе. Разработаны методы, позволяющие переводить клетки в длительно размножающиеся культуры и обеспечивающие возможность их культивирования в течение десятка пассажей с сохранением нормального кариотипа и всех признаков нормальных клеток (13).

Следует отметить, что в отличие от половых клеток и эмбрионов соматические клетки имеют небольшие размеры и, соответственно, более устойчивы к криоконсервации. История разработки метода исчисляется десятилетиями, в связи с чем мероприятия по созданию банков этих клеток для большинства типов тканей представляют собой рутинную процедуру и сводятся к выделению клеточной массы из исходной ткани животного, ее культивированию, получению первичной культуры, наращиванию нужного количества клеточной массы, ее замораживанию и хранению в жидком азоте (13).

Создание криобанков клеток предусматривает криоконсервацию образцов и их хранение при температуре ниже -146 °С. В таких условиях биологический материал почти полностью защищен от химических и физических изменений. Следовательно, он имеет огромный потенциал не только для проведения работ по сохранению генетических ресурсов методом *ex situ*, но и для исследований методами современной биологии (14). Для создания жизнеспособных криоконсервированных клеточных линий достаточно небольшого количества биопсийного материала, в том числе от умершего животного, но при этом такие линии содержат полный геном и протеом. В отличие от половых клеток и эмбрионов, а также от генеративных тканей криоконсервированные соматические клетки после многократного размораживания способны к регенерации, то есть могут практически бесконечно служить источником биоматериала как для использования во вспомогательных репродуктивных технологиях, так и для биологических исследований, в том числе ретроспективных (9, 15).

Наглядной демонстрацией роли криобанков в сохранении генетических ресурсов домашних и диких животных служат результаты деятельности международного консорциума Frozen Ark (16), его участников — зоопарка Сан-Диего (Калифорния, США) (17) и лаборатории по сохранению исчезающих видов LaCONES (Индия), а также банка генетических ресурсов Сеульского национального университета (Южная Корея) (10). Работа по сохранению генетических ресурсов через создание банков соматических клеток и тканей также активно проводится в рамках национальных программ такими странами, как Канада, Бразилия, Китай, Германия, Польша, Испания и Турция (10, 15, 18-23). Заслуживают внимания результаты реализации проекта по использованию банков соматических клеток и технологии клонирования для сохранения аборигенных анатолийских пород домашних животных (23).

Сущность клонирования заключается в удалении ядра из зрелого ооцита и введении ядра донорской соматической клетки. После пересадки донорское ядро подвергается эпигенетическому репрограммированию под влиянием ряда факторов, локализованных в ооплазме, что позволяет дифференцированному донорскому ядру стать активным и начать свое развитие не как соматическая клетка, а как одноклеточный эмбрион (24).

Идея клонирования была высказана Гансом Шпеманом (H. Spemann), который продемонстрировал, что у саламандр ядра клеток до 16-клеточной стадии обладают плюрипотентными свойствами (25). Пересадки ядер у млекопитающих начались позднее, в 1980-х годах. Это было связано с техническими трудностями, так как зигота млекопитающих имеет небольшие размеры, что затрудняло проведение манипуляций. Тем не менее, первые сообщения о получении клонов мышей, идентичных донору, появились уже в 1981 году. В 1986 году о первой успешной ядерной передаче у овцы сообщил S.M. Willadsen (26). Клонированная им овца была произведена микрохирургической энуклеацией ооцитов на стадии метафазы МП и их последующим слиянием с 8- и 16-клеточными бластомерами. После успехов клонирования с ранними эмбриональными бластомерами были предприняты попытки клонирования животных из культивируемых клеток. В 1996 году в Шотландском университете К.Н.С. Campbell с соавт. (27) использовали в качестве доноров ядер клетки, которые были получены из внутренней клеточной массы бластоцисты. Это исследование закончилось рождением двух ягнят — Меган (Megan) и Мораг (Morag) и стало решающим шагом к получению клонов с использованием соматических клеток взрослого животного.

Первое клонированное потомство методом переноса ядер соматических клеток млекопитающих осуществлено в том же университете в 1997 году (28). Рождение овцы Долли (Dolly) вызвало огромный научный интерес и способствовало в дальнейшем большому количеству исследований в направлении получения клонированного потомства с использованием соматических клеток и у других видов животных.

За последние годы с использованием дифференцированных соматических клеток были получены особи разных видов млекопитающих, включая домашних и диких животных (28-49) (таб.).

Получение первого клонированного потомства у различных видов животных

Год	Вид животного	Авторы и страна
1997	Овцы	A.E. Schnieke с соавт. (Великобритания) (28)
1998	Мыши	T. Wakayama с соавт. (США) (29)
1998	Коровы	J.B. Cibelli с соавт. (Новая Зеландия) (30)
1999	Козы	A. Baguisi с соавт. (Япония) (31)
2000	Свиньи	I.A. Polejaeva с соавт. (Великобритания) (32)
2000	Гуар	R.P. Lanza (США) (33)
2001	Муфлон	P. Loi с соавт. (Италия) (34)
2002	Домашняя кошка	T. Shin с соавт. (США) (35)
2002	Кролики	P. Chesne (Китай) (36)
2003	Мул	G.L. Woods с соавт. (США) (37)
2003	Лошадь	C. Galli с соавт. (Италия) (38)
2003	Крыса	Q. Zhou с соавт. (Франция, Китай) (39)
2004	Дикая кошка	M.C. Gomes с соавт. (США) (40)
2005	Собака	B.C. Lee с соавт. (Корея) (41)
2005	Бантенг	M.J. Sansinena с соавт. (США) (42)
2006	Хорек	Z. Li с соавт. (Китай, США, Франция) (43)
2007	Волк	M.K. Kim с соавт. (Корея) (44)
2007	Буйвол	D. Shi с соавт. (Китай) (45)
2007	Благородный олень	D.K. Berg с соавт. (Новая Зеландия) (46)
2009	Горный козел	J. Folch с соавт. (Испания) (47)
2010	Верблюд	N.A. Wani с соавт. (ОАЭ) (48)
2012	Койот	I. Hwang с соавт. (Корея) (49)

Для производства клонированных животных можно использовать практически любые типы клеток (12). Имеются данные о применении для этого эмбриональных клеток (50), клеток молочной железы, кумулюса, гранулезы, яйцевода, печени (29, 51-55), фибробластов (56), лейкоцитов

(57) и эмбриональных стволовых клеток (58), но эффективность клонирования при этом существенно зависит от типа клеток. Наиболее результативным с точки зрения эмбрионального развития и рождения живого потомства является клонирование с использованием в качестве доноров ядерного материала фетальных фибробластов. Указанный тип клеток характеризуется низким уровнем мутаций и высокой пролиферативной активностью (12). Однако при создании банка соматических клеток с целью сохранения генетических ресурсов животных не всегда есть возможность и целесообразность получения фетального материала, и источником клеток тогда служат ткани взрослого животного. Соматические клетки взрослого животного получают чаще всего из кожи, мышц и хрящевой ткани. Их можно выделять как из свежей ткани, хранившейся не более 2 нед при +4 °С, так и замороженного материала (59). К недостаткам выделяемых из таких тканей клеток следует отнести их более низкую по сравнению с фетальными фибробластами потенцию к репрограммированию и последующему эмбриональному развитию (60-61).

Результаты последних лет показывают, что альтернативным источником ядер при клонировании могут быть стволовые клетки. Этот тип клеток присутствует в каждом органе взрослого животного, обеспечивая поддержание структурного и функционального гомеостаза. Стволовые клетки претерпевают больше циклов репликации и имеют большую пластичность, чем полностью дифференцированные соматические клетки (62). Исследования, проводимые с использованием нейральных стволовых клеток мышей, продемонстрировали, что полностью репрограммировать ядро стволовой или прогениторной клетки (то есть стволовой, детерминированной на дифференцировку в определенный тип клеток) легче, чем терминально дифференцированной, также показано, что при использовании в качестве кариопласта ядер стволовых клеток значительно увеличивается число получаемых клонированных эмбрионов (63). В настоящее время наиболее привлекательным источником ядер для клонирования считаются мезенхимные стволовые клетки (64-66).

Технология клонирования с использованием клеток взрослых индивидуумов значительно расширяет спектр ее применения в программах по сохранению генетических ресурсов животных и птиц, а также в селекции. Клонирование взрослых животных позволит вместо генетической селекции осуществлять фенотипическую селекцию. Хромосомная комбинация генов при клонировании остается неизменной, что означает возможность использования не только аддитивного их действия. В стандартизированной окружающей среде, которая может достигаться в хозяйствах с хорошей системой управления, продуктивность клонов должна различаться только в пределах остающейся природной изменчивости и обусловленной технологией клонирования митохондриальной генетической изменчивости. Это позволит достигнуть уровня продуктивности лучших животных внутри одного стада уже в течение одной генерации. Особое значение в этом аспекте приобретает отбор животных с высокой пожизненной продуктивностью (22).

Несмотря на то, что в последние годы в области клонирования достигнуты определенные успехи, эффективность технологии остается крайне низкой, высока частота аномального эмбрионального развития, а рожденное потомство менее жизнеспособно (67, 68). Лидером по клонированию пока остается крупный рогатый скот, результативность рождения потомства у которого в среднем составляет 10, а в ряде случаев 25 %. Для большинства же других животных этот показатель чаще всего не превышает

ет 1 %. Создавая банки соматических клеток и тканей сегодня, человек таким образом сохраняет биологический материал для применения соматического клонирования в будущем, когда эффективность этой технологии возрастет (69).

Одно из направлений в области клонирования — поиск универсального цитопласта для переноса ядер соматических клеток. Эти исследования стали актуальны в первую очередь в рамках программ по сохранению генетического материала диких животных. Получение аутогенных цитопластов у последних по известным причинам невозможно или затруднено. Ооциты, используемые для межвидового клонирования должны отвечать определенным требованиям. Важно, чтобы получение цитопласта не было дорогим и сложным, а также чтобы ооцит имел способность к репрограммированию соматических клеток других видов и поддержанию эмбрионального развития межвидовых цитогбридов.

В 1999 году Т. Dominko с соавт. (70) впервые показали, что цитоплазма ооцитов крупного рогатого скота способна репрограммировать ядра соматических клеток других животных. После переноса в энуклеированный на стадии МII ооцит крупного рогатого скота ядер из клеток кожи овец, свиней, обезьян и крыс происходило объединение цитопласта и ксеногенного кариопласта. В последующем ооциты крупного рогатого скота использовались в качестве цитопласта при переносе ядер соматических клеток свиней (71), коалы (72), антилопы, тура (73), лошадей (74), черного медведя (75), горной антилопы (76), кур (77), яка и собаки (78), а также бизона (79). Причиной, по которой ооциты крупного рогатого скота оказались универсальной моделью для биотехнологических исследований (и в частности, для межвидового клонирования), стала дешевизна их получения (яичники животных после убоя) и простота подготовки (культивирование *in vitro* обеспечивает до 90 % созревания ооцитов). Более того, технология, разработанная для культивирования ооцитов и эмбрионов указанного вида животных, в настоящее время считается самой совершенной.

В 2000 году ученые из штата Айова (США) получили первого клонированного индийского бизона гаура, находящегося на грани вымирания. Ядра фибробластов взрослого самца гаура были введены в энуклеированные ооциты коров. Полученные таким способом 44 эмбриона после культивирования *in vitro* трансплантировали 32 коровам. У одной из них родился живой теленок гаура (33).

Ярким примером использования межвидового клонирования служит работа по сохранению бантенга (*Bos javanicus*) — животного из отряда парнокопытных. Его численность уменьшилась на 85 % в течение последних 15-20 лет. В 2003 году в США были предприняты мероприятия по сохранению этого редкого вида. Отсутствие аутогенных ооцитов также делало невозможным внутривидовую трансплантацию ядер соматических клеток. Поэтому были использованы ооциты коров, в которые пересаживались ядра фибробластов из кожи взрослого животного (самки и самца). Генный материал для клонирования был получен из Центра воспроизводства вымирающих животных зоопарка Сан-Диего (the San Diego Zoo's Center for Reproduction of Endangered Species — CRES), где сохраняются генетические ткани исчезающих животных. После пересадки суррогатным коровам 30 бластоцист родились два теленка (42).

Интересные результаты были достигнуты на домашней овце и ее диких родственниках, прежде всего на европейском муфлоне. Ядра соматических клеток взрослой самки муфлона, найденной мертвой на пастбище, были введены в энуклеированные ооциты домашней овцы, затем за-

родыши трансплантировали овцам-реципиентам и получили живое потомство. В работе, проведенной в 2001 году (34), удалось успешно применить метод репродуктивного клонирования к исчезающему виду *Ovis orientalis*, причем источником генетического материала были мертвые самки, а эффективность процедуры оказалась намного выше, чем при создании знаменитой Dolly.

В Испании в 2009 году родился клонированный детеныш вымершего подвида пиренейского горного козла букардо (испанский козерог *Capra pyrenaica pyrenaica*). Исследователи переносили соматические клетки букардо в энуклеированные ооциты домашней козы. Подсаживали полученные эмбрионы суррогатным матерям — самкам других подвидов испанского козла или гибридных видов, полученных скрещиванием домашних и диких коз. В результате эксперимента было создано 439 эмбрионов, 57 из которых имплантировали в суррогатные матки. Одна коза родила самку букардо, умершую через 7 мин после рождения от проблем с дыхательной системой (47).

Перечисленные выше возможности клонирования базируются на потенциале, который описанная технология может предложить в настоящее время. При этом следует подчеркнуть, что пока еще до конца не ясно, будет ли клонирование с использованием клеток взрослых организмов в ближайшем будущем оптимизировано таким образом, что соотношение между затратами на его осуществление и результативность окажется приемлемым.

Таким образом, создание криобанков соматических клеток — доноров ядер для клонирования рассматривается как вспомогательный инструмент сохранения и улучшения генофонда сельскохозяйственных животных и птицы. В отличие от половых клеток и эмбрионов, а также от генеративных тканей криоконсервированные соматические клетки после многократного размораживания способны к регенерации, то есть могут практически бесконечно служить источником биоматериала как для использования во вспомогательных репродуктивных технологиях, так и для биологических исследований, в том числе ретроспективных. Кроме того, из-за небольшого размера соматические клетки более устойчивы к криоконсервации. Для производства клонированных животных можно использовать практически любые клетки, но эффективность клонирования существенно зависит от их типа. Наиболее результативно с точки зрения эмбрионального развития и рождения живого потомства клонирование с использованием фетальных фибробластов в качестве доноров ядерного материала. Альтернативным источником ядер при клонировании могут быть стволовые клетки. С применением клонирования были получены домашние и дикие животные разных видов: овцы, мыши, коровы, козы, свиньи, гуар, муфлон, домашняя кошка, кролики, мул, лошадь, крыса, дикая кошка, собака, бантенг, хорек, волк, буйвол, благородный олень, горный козел, верблюд, койот. Лидером по клонированию пока остается крупный рогатый скот, результативность рождения потомства у которого в среднем составляет 10, а в ряде случаев 25 %. Для большинства других животных этот показатель пока что не превышает 1 %. На практике с помощью клонирования животных с высокой продуктивностью можно достигнуть уровня продуктивности лучших животных внутри одного стада уже в течение одной генерации. Перспективы практического применения клонирования, в том числе с использованием криоконсервированного материала, зависят в значительной степени от того, окажется ли соотношение между затратами на его осуществление и результативность экономически приемлемым.

ЛИТЕРАТУРА

1. Holt W.V., Pickard A.R. Role of reproductive technologies in genetic resource banks in animal conservation. *Rev. Reprod.*, 1999, 4(3): 143-150 (doi: 10.1530/revreprod/4.3.143).
2. Patterson D.L., Silversides F.G. Farm animal genetic resource conservation. Why and how? Canadian Farm Animal Genetic Resource Foundation, 2003 (http://www.cfagr.com/Farm_Animal_Genetic_Resource_Conservation_Why_and_How.htm).
3. Buerkle T. FAO sounds alarm on loss of livestock breeds. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2007 (<http://www.fao.org>).
4. FAO. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO, 2007.
5. FAO. Global Plan of Action for Animal Genetic Resources. FAO, 2007.
6. Pereira R.M., Marques C.C. Animal oocyte and embryo cryopreservation. *Cell and Tissue Banking*, 2008, 9(4): 267-277 (doi: 10.1007/s10561-008-9075-2).
7. Roldan E.R., Gomendio M., Garde J.J., Espeso G., Ledda S., Berlinguer F., DeIolmo A., Soler A.J., Arregui L., Crespo C., Gonzales R. Inbreeding and reproduction in endangered ungulates: preservation of genetic variation through the Organization of Genetic Resource Banks. *Reprod. Domest. Anim.*, 2006, 41: 82-89 (doi: 10.1111/j.1439-0531.2006.00772.x).
8. Hanks J. Conservation strategies for Africa's large mammals. *Reprod. Fert. Develop.*, 2001, 13(7-8): 459-468.
9. Lermen D., Blömeke B., Browne A., Clarke A., Dyce P.W., Fixemer T., Fuhr G.R., Holt W.V., Jewgenow K., Lloyd R.E., Lötters S., Paulus M., McGregor Reid G., Rapoport D.H., Rawson D., Ringleb J., Ryder O.A., Spörl G., Schmitt T., Veith M., Müller P. Cryobanking of viable Biomaterials — Implementation of new Strategies for Conservation Purposes. *Mol. Ecol.*, 2009, 18: 1030-1033 (doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.04062.x).
10. Andrabi S.M.H., Maxwell W.M.C. A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. *Animal Reprod. Sci.*, 2007, 99(3-4): 223-243 (doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.07.002).
11. Boettcher P.J., Stella A., Pizzi F., Gandini G. The combined use of embryos and semen for cryogenic conservation of mammalian livestock genetic resources. *Gen. Select. Evol.*, 2005, 37(6): 657-675 (doi: 10.1186/1297-9686-37-7-657).
12. Niemann H., Lucas-Hahn A. Somatic cell nuclear transfer cloning: practical applications and current legislation. *Reprod. Dom. Anim.*, 2012, 47(5): 2-10 (doi: 10.1111/j.1439-0531.2012.02121.x).
13. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. М., 2010.
14. Agca Y. Genome resource banking of biomedically important laboratory animals. *Theriogenology*, 2012, 78: 1653-1665 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2012.08.012).
15. Leon-Quinto T., Simon M.A., Cadenas R., Jones J., Martinez-Hernandez F.J., Moreno J.M., Vargas A., Martinez F., Soria B. Developing biological resource banks as a supporting tool for wildlife reproduction and conservation. The Iberian lynx bank as a model for other endangered species. *Anim. Reprod. Sci.*, 2009, 112: 347-361 (doi: 10.1016/j.anireprosci.2008.05.070).
16. Clarke A.G. The frozen ark project: the role of zoos and aquariums in preserving the genetic material of threatened animals. *International Zoo Yearbook*, 2009, 43(1): 222-230 (doi: 10.1111/j.1748-1090.2008.00074.x).
17. Ryder O. Conservation genomics: applying whole genome studies to species conservation efforts. *Cytogenet. Genome Res.*, 2005, 108: 6-15 (doi: 10.1159/000080796).
18. Blackburn H.D. Genebank development for the conservation of livestock genetic resources in the United States of America. *Livestock Sci.*, 2009, 120: 196-203 (doi: 10.1016/j.livsci.2008.07.004).
19. Mariante A., Albuquerque M., Egito A., McManus C., Lopes M., Paiva S. Present status of the conservation of livestock genetic resources in Brazil. *Livestock Sci.*, 2009, 120: 204-212 (doi: 10.1016/j.livsci.2008.07.007).
20. Martyniuk E. Animal genetic resources in Poland: successes and obstacles. *Proc. Workshop: International Strategic Programs for the Conservation of Animal Genetic Resources for Food and Agriculture /C. Lessard (ed.)*. Vancouver, B.C., 2010: 29-35 (ISBN: 978-0-88880-566-9).
21. Richards K., Lessard C., Plante Y., Anzar M. Canadian animal genetic resources program. *Proc. Workshop: International Strategic Programs for the Conservation of Animal Genetic Resources for Food and Agriculture /C. Lessard (ed.)*. Vancouver, B.C., 2010: 12-18 (ISBN: 978-0-88880-566-9).
22. Blackburn H.D. Genetic Selection and Conservation of Genetic Diversity. *Reprod. Dom. Anim.*, 2012, 47(4): 249-254 (doi: 10.1111/j.1439-0531.2012.02083.x).
23. Arat S., Caputcu A.T., Akkoc T., Pabuccuoglu S., Sagirkaya H., Cirit U., Nak Y., Koban E., Bagis H., Demir K., Nak D., Senunver A., Kilicaslan R., Tuna B., Cetinkaya G., Denizci M., Aslan O. Using cell banks as a tool

- in conservation programmes of native domestic breeds: the production of the first cloned Anatolian Grey cattle. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2011, 23: 1012-1023 (doi: 10.1071/RD11026).
24. Campbell K.H.S., Alberio R., Lee J.H., Ritchie W.A. Nuclear transfer in practice. *Cloning and Stem Cells*, 2001, 3: 201-208 (doi: 10.1089/15362300152725927).
 25. Spemann H. Embryonic development and induction. New Haven. CT. Yale Univ. Press, 1938.
 26. Willadsen S.M. Nuclear transplantation in sheep embryos. *Nature*, 1986, 320: 63-65 (doi: 10.1038/320063a0).
 27. Campbell K.H.S., Whir Me J., Ritchie W.A., Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, 1996, 380: 64-66 (doi: 10.1038/380064a0).
 28. Schnieke A.E., Kind A.J., Ritchie W.A., Mycock K., Scott A.R., Ritchie M., Wilmut I., Colman A., Campbell K.H. Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science*, 1997, 278: 2130-2133 (doi: 10.1126/science.278.5346.2130).
 29. Wakayama T., Perry A.C., Zuccotti M., Johnson K.R., Yanagimachi R. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*, 1998, 394: 369-374.
 30. Cibelli J.B., Stice S.L., Golueke P.J., Kane J.J., Jerry J., Blackwell C., Ponce de Leon F.A., Robl J.M. Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. *Science*, 1998, 280: 1256-1258 (doi: 10.1126/science.280.5367.1256).
 31. Baguisi A., Behboodi E., Melican D.T., Pollock J.S., Destrempes M.M., Cammuso C., Williams J.L., Nims S.D., Poller C.A., Midura P., Palacios M.J., Ayres S.L., Denniston R.S., Hayes M.L., Ziomek C., Meade H.M., Godke R.A., Gavin W.G., Overstrom E.W., Echelard Y. Production of goats by somatic cell nuclear transfer. *Nat. Biotechnol.*, 1999, 17: 456-461.
 32. Polejaeva I.A., Chen S.H., Vaught T.D., Page R.L., Mullins J., Ball S., Dai Y., Boone J., Walker S., Ayres D.L., Colman A., Campbell K.H. Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cell. *Nature*, 2000, 407: 85-90.
 33. Lanza R.P., Cibelli J.B., Diaz F., Moraes C.T., Farin P.W., Farin C.E., Hammer C.J., West M.D., Damiani P. Cloning of an endangered species (*Bos gaurus*) using interspecies nuclear transfer. *Cloning*, 2000, 2(2): 79-90 (doi: 10.1089/152045500436104).
 34. Loi P., Ptak G., Barboni B., Fulka J., Cappai P., Clinton M. Genetic rescue of an endangered mammal by cross-species nuclear transfer using post-mortem somatic cells. *Nature Biotechnol.*, 2001, 19: 962-964.
 35. Shin T., Kraemer D., Pryor J.H., Liu J.L., Ruglia J., Howe L.M., Buck S., Murphy K., Lyons L., Westhusin M.E. A cat cloned by nuclear transplantation. *Nature*, 2002, 415: 859.
 36. Chesné P., Adenot P.G., Viglietta C., Baratte M., Boulanger L., Renard J.P. Cloned rabbits produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nat. Biotechnol.*, 2002, 20: 366-369.
 37. Woods G.L., White K.L., Vanderwall D.K., Li G., Aston K.I., Bunch T.D., Meerdo L.N., Pate B.J. A mule cloned from fetal cells by nuclear transfer. *Science*, 2003, 301: 1063 (doi: 10.1126/science.1086743).
 38. Galli C., Lagutina I., Crotti G., Colleoni S., Turini P., Ponderato N., Duchi R., Lazzari G. Pregnancy: a cloned horse born to its dam twin. *Nature*, 2003, 424: 635 (doi: 10.1038/424635a).
 39. Zhou Q., Renard J.P., Le Friec G., Brouhard V., Beujean N., Cherifi N., Fraichard A., Cozzi J. Generation of fertile cloned rats by regulating oocyte activation. *Science*, 2003, 302: 1179 (doi: 10.1126/science.1088313).
 40. Gomez M.C., Pope C.E., Giraldo A., Lyons L.A., Harris R.F., King A.L., Cole A., Godke R.A., Dresser B.L. Birth of African Wildcat cloned kittens born from domestic cats. *Cloning Stem Cells*, 2004, 6(3): 247-258 (doi: 10.1089/clo.2004.6.247).
 41. Lee B.C., Kim M.K., Jang G., Oh H.J., Yuda F., Kim H.J., Hossein M.S., Kim J.J., Kang S.K., Schatten G., Hwang W.S. Dogs cloned from adult somatic cells. *Nature*, 2005, 436(7051): 641 (doi: 10.1038/436641a).
 42. Sansinena M.J., Hylan D., Hebert K., Denniston R.S., Godke R.A. Banteng (*Bos javanicus*) embryos and pregnancies produced by interspecies nuclear transfer. *Theriogenology*, 2005, 63: 1081-1091 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.05.025).
 43. Li Z., Sun X., Chen J., Liu X., Wisely S.M., Zhou Q., Renard J.P., Leno G.H., Engelhardt J.F. Cloned ferrets produced by somatic cell nuclear transfer. *Dev. Biol.*, 2006, 293: 439-448 (doi: 10.1016/j.ydbio.2006.02.016).
 44. Kim M.K., Jang G., Oh H.J., Yuda F., Kim H.J., Hwang W.S., Hossein M.S., Kim J.J., Shin N.S., Kang S.K., Lee B.C. Endangered wolves cloned from adult somatic cells. *Cloning Stem Cells*, 2007, 9: 130-137 (doi: 10.1089/clo.2006.0034).
 45. Shi D., Lu F., Wei Y., Cui K., Yang S., Wei J., Liu Q. Buffaloes (*Bubalus bubalis*) cloned by nuclear transfer of somatic cells. *Biol. Reprod.*, 2007, 77: 285-291 (doi: 10.1095/biolreprod.107.060210).
 46. Berg D.K., Li C., Asher G., Wells D.N., Oback B. Red deer cloned from antler

- stem cells and their differentiated progeny. *Biol. Reprod.*, 2007, 77(3): 384-394 (doi: 10.1095/biolreprod.106.058172).
47. Folch J, Cocero M.J., Chesne P., Alabart J.L., Dominguez V., Cognie Y., Roche A., Fernandez-Arias Marti J.I., Sanchez P., Echegoyen E., Beckers J.F., Bonastre A.S., Vignon X. First birth of an animal from an extinct subspecies (*Capra pyrenaica pyrenaica*) by cloning. *Theriogenology*, 2009, 71: 1026-1034 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2008.11.005).
 48. Wani N.A., Wernery U., Hassan F.A., Wernery R., Skidmore J.A. Production of the first cloned camel by somatic cell nuclear transfer. *Biol. Reprod.*, 2010, 82: 373-379 (doi: 10.1095/biolreprod.109.081083).
 49. Hwang I., Jeong J.W., Kim J.J., Lee H.J., Kang M., Park K.B., Park J.H., Kim Y.W., Kim W.T., Shin T., Hyun S.H., Jeung E.-B., Hwang W.S. Successful cloning of coyotes through interspecies somatic cell nuclear transfer using domestic dog oocytes. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2012, 25(8): 1142-1148 (doi: 10.1071/RD12256).
 50. Campbell K.H.S., Ritchie W.A., Wilmut I. Nuclear-cytoplasmic interactions during the first cell cycle of nuclear transfer reconstructed bovine embryos: Implications for deoxyribonucleic acid replication and development. *Biol. Reprod.*, 1993, 49: 933-942. (doi: 10.1095/biolreprod49.5.933).
 51. Wilmut I., Schnieke A.E., McWhir J., Kind A.J., Campbell K.H.S. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 1997, 385: 810-813 (doi: 10.1038/385810a0).
 52. Zou X., Chen Y., Wang Y., Luo J., Zhang Q., Zhang X., Yang Y., Ju H., Shen Y., Lao W., Xu S., Du M. Production of cloned goats from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei or fused with cumulus cells. *Cloning*, 2001, 3: 31-37 (doi: 10.1089/152045501300189312).
 53. Wells D.N., Misica P.M., Tervit H.R. Production of cloned calves following nuclear transfer with adult mural granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 1999, 60: 996-1005 (doi: 10.1095/biolreprod60.4.996).
 54. Kato Y., Tani T., Tsunoda Y. Cloning of calves from various somatic cell types of male and female adult, newborn and fetal cows. *J. Reprod. Fertil.*, 2000, 120: 231-237 (doi: 10.1530/reprod/120.2.231).
 55. Brem G., Kiilliolzer B. The recent history of somatic cloning in mammals. *Cloning and Stem Cells*, 2002, 4: 57-63 (doi: 10.1089/153623002753632057).
 56. Kato Y., Tani T., Sotomaru Y., Kurokawa K., Kato J., Doguchi H., Yasue H., Tsunoda Y. Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science*, 1998, 282: 2095-2098 (doi: 10.1126/science.282.5396.2095).
 57. Galli C., Duchi R., Moor R.M., Lazzari G. Mammalian leukocytes contain all the genetic information necessary for the development of a new individual cloning. *Cloning*, 1999, 1: 161-170.
 58. Eggan K., Akiitsu H., Loring J., Jackson-Grusby L., Klemm M., Rideout W.M., Yanagimachi R., Jaenisch R. Hybrid vigor, fetal overgrowth and viability of mice derived by nuclear cloning and tetraploid embryo complementation. *PNAS USA*, 2001, 98: 6209-6214 (doi: 10.1073/pnas.101118898).
 59. Cetinkaya G., Hatipoglu I., Arat S. The value of frozen cartilage tissues without cryoprotection for genetic conservation. *Cryobiology*, 2014, 68: 65-70 (doi: 10.1016/j.cryobiol.2013.11.008).
 60. Belloch R., Wang Z., Meissner A., Pollard S., Smith A., Jaenisch R. Reprogramming efficiency following somatic cell nuclear transfer is influenced by the differentiation and methylation state of the donor nucleus. *Stem Cells*, 2006, 24(9): 2007-2013 (doi: 10.1634/stemcells.2006-0050).
 61. Leyn-Quinto T., Simyn M.A., Cadenas R., Martínez A., Serna A. Different cryopreservation requirements in foetal versus adult skin cells from an endangered mammal, the Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Cryobiology*, 2014, 68: 227-233 (doi: 10.1016/j.cryobiol.2014.02.001).
 62. Yang X., Qu L., Wang X., Zhao M., Li W., Hua J., Shi M., Moldovan N., Wang H., Dou Z. Plasticity of epidermal adult stem cells derived from adult goat ear skin. *Mol. Reprod. Dev.*, 2007, 74: 386-396 (doi: 10.1002/mrd.20598).
 63. Jin H., Kumar B., Kim J.G., Song H.J., Jeong Y.J., Cho S.K., Balasubramanian S., Choe S.Y., Rho G.J. Enhanced development of porcine embryos cloned from bone marrow mesenchymal stem cells. *Int. J. Dev. Biol.*, 2007, 51: 85-90 (doi: 10.1387/ijdb.062165hj).
 64. Kato Y., Imabayashi H., Mori T., Tani T., Taniguchi M., Higashi M., Matsumoto M., Umezawa A., Tsunoda Y. Nuclear transfer of adult bone marrow mesenchymal stem cells: developmental totipotency of tissuespecific stem cells from an adult mammal. *Biol. Reprod.*, 2004, 70: 415-418 (doi: 10.1095/biolreprod.103.020271).
 65. Bosch P., Pratt S.L., Stice S.L. Isolation, characterization, gene modification, and nuclear reprogramming of porcine mesenchymal stem cells. *Biol. Reprod.*, 2006, 74: 46-57 (doi: 10.1095/biolreprod.105.045138).
 66. Kumar B.M., Jin H.F., Kim J.G., Ock S.A., Hong Y., Balasubramanian S.,

- Choe S.Y., Rho G.J. Differential gene expression patterns in porcine nuclear transfer embryos reconstructed with fetal fibroblasts and mesenchymal stem cells. *Dev. Dyn.*, 2007, 236: 435-446 (doi: 10.1002/dvdy.21042).
67. Campbell K.H., Alberio R., Choi I., Fisher P., Kelly R.D., Lee J.H., Maa-louf W. Cloning: eight years after dolly. *Reprod. Domest. Anim.*, 2005, 40: 256-268 (doi: 10.1111/j.1439-0531.2005.00591.x).
 68. Farin P.W., Piedrahita J.A., Farin C.E. Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. *Theriogenology*, 2006, 65: 178-191 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.09.022).
 69. Parnpai R., Kanokwan Srirattana K., Imsoonthornruksa S., Ketudat-Cairns M. Somatic cell cloning for livestock and endangered species. *Thai. J. Vet. Med.*, 2011, 41 Suppl.: 77-85.
 70. Dominko T., Mitalipova M., Haley B., Beyhan Z., Memili E., McKusick B., First N.L. Bovine oocyte cytoplasm supports development of embryos produced by nuclear transfer of somatic cell nuclei from various mammalian species. *Biol. Reprod.*, 1999, 60: 1496-1502 (doi: 10.1095/biolreprod60.6.1496).
 71. Yoon T., Choi E.J., Han K.Y., Shim H., Roh S. In vitro development of embryos produced by nuclear transfer of porcine somatic cell nuclei into bovine oocytes using three different culture systems. *Theriogenology*, 2001, 55: 298. (Abstract).
 72. Bui L.C., Vignon X., Champion E., Laloy E., Lavergne Y., Ty L.V., Nguyen B.X., Renard J.P. Use of interspecies nuclear transfer to study the early embryonic development and nuclear activities of the endangered species pseudoryx nghetinhensis (saola). *Theriogenology*, 2002, 57: 427 (Abstract).
 73. Damiani P., Wirtu G., Miller F., Cole A., Pope C., Godke R.A., Dresser B.L. Development of giant eland (*Taurotragus oryx*) and bovine (*Bos taurus*) oocytes. *Theriogenology*, 2003, 58: 390 (Abstract).
 74. Sansinena M.J., Reggio B.C., Denniston R.S., Godke R.A. Nuclear transfer embryos from different equine cell lines as donor karyoplasts using the bovine oocyte as recipient cytoplasm. *Theriogenology*, 2002, 58: 775-777.
 75. Ty L.V., Hanh N.V., Uoc N.T., Duc N.H., Thanh N.T., Bui L.C., Huu Q.X., Nguyen B.X. Preliminary results of cell cryobanking and embryo production of black bear (*Ursus thibetanus*) by interspecies somatic cell nuclear transfer. *Theriogenology*, 2003, 59: 290 (Abstract).
 76. Lee B., Wirtu G., Andrews J., Poole K., Dresser B., Bavister B. Blastocyst development after interspecies nuclear transfer of mountain bongo antelope somatic cells into bovine oocytes. *Theriogenology*, 2002, 57: 586. (Abstract).
 77. Kim T.M., Park T.S., Shin S.S., Han J.Y., Moon S.Y., Lim J.M. An interspecies nuclear transfer between fowl and mammal: in vitro development chicken-cattle interspecies embryos and detection of chicken genetic complements. *Fertil. Steril.*, 2004, 82: 957-959.
 78. Murakami M., Otoi T., Wongsrikeao P., Agung B., Sambuu R., Suzuki T. Development of interspecies cloned embryos in yak and dog. *Cloning Stem Cells*, 2005, 7(2): 77-81 (doi: 10.1089/clo.2005.7.77).
 79. Seaby R.P., Alexander B., King W.A., Mastromonaco G.F. In vitro development of bison embryos using interspecies somatic cell nuclear transfer. *Reprod. Domest. Anim.*, 2013, 48(60): 881-887 (doi: 10.1111/rda.12180).

*ГНУ Всероссийский НИИ животноводства
Россельхозакадемии,*

142132 Россия, Московская обл., Подольский р-н, пос. Дубровицы,
e-mail: g_singina@mail.ru, natavolkova@inbox.ru, vugarbagirov@mail.ru,
n_zinovieva@mail.ru

*Поступила в редакцию
18 августа 2014 года*

CRYOBANKING OF SOMATIC CELLS IN CONSERVATION OF ANIMAL GENETIC RESOURCES: PROSPECTS AND SUCCESSES

(review)

G.N. Singina, N.A. Volkova, V.A. Bagirov, N.A. Zinovieva

All-Russian Research Institute of Animal Husbandry, Russian Academy of Agricultural Sciences, pos. Dubrovitsy, Podolsk Region, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail g_singina@mail.ru, natavolkova@inbox.ru, vugarbagirov@mail.ru, n_zinovieva@mail.ru

Supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation

Received August 18, 2014

doi: 10.15389/agrobiol.2014.6.3eng

Abstract

Extinction of many species is irreversible and is a part of the natural evolution, but human activities have influenced this process, making it much faster comparing to speciation.

According to FAO, approximately 20 % of the breeds of cattle, goats, pigs, horses and poultry in the world are currently at risk of disappearance, many have died in the past few years, as a result their genetic characteristics lost forever. The role of banks in the management of genetic resources and the conservation of endangered species is particularly noticeable in the last decade. Most cryobanks focus on the cryopreservation of gametes (primarily sperm) and embryos. Their main goal is to produce offspring using reproductive technologies, which include artificial insemination, in vitro fertilization and embryo transfer. The discovery of the phenomenon of reprogramming somatic cell nuclear allowed expanding the range of forms of biological material in programs for cryopreservation. Creating cryobanks of somatic cells as donors of nuclei for cloning considered an auxiliary instrument for the preservation and improvement of the gene pool of farm animals and poultry. To obtain viable cryopreserved cell lines very small amount of biopsy material, including that of dead animals, is sufficient, but such lines contain the complete genome and proteome. In contrast to germ cells, embryos and generative tissues, the cryopreserved somatic cells after repeated thawing are capable to regenerate, i.e. almost infinitely may serve as a source of biomaterial for use in assisted reproductive technologies and biological research, including retrospective reconstruction. Furthermore, due to the small size the somatic cells are more resistant to cryopreservation. This review also provides a brief description of the principles and history of cloning. The advantages of the use of different cell types as karyoplasts are discussed. In particular, almost all types of cells (e.g. embryonic cells, mammary cells, cumulus, granulosa, oviduct, liver, fibroblasts, white blood cells and embryonic stem cells) can be used for the production of cloned animals, but the cloning efficiency depends significantly on the type of cells. Aiming embryo development and birth of live offspring, the fetal fibroblasts as donors of nuclear material for cloning are most effective. Alternatively, the stem cells may be a source of the nuclei. Stem or progenitor cells (i.e., stem, determined to differentiate in specific type cells) are easier reprogrammed than terminally differentiated cells. Also when stem cells nuclei are used as karyoplasts the number of cloned embryos significantly increased. The advances in interspecific cloning as a strategy for restoration of rare and endangered species are discussed. Numerous examples show that somatic cells can be considered the most promising material for the recovery of animal genetic resources of different types. Particularly from 1997 to 2012 using the differentiated somatic cells the domestic and wild animals of different species such as sheep, mice, cows, goats, pigs, guar, mouflon, domestic cat, rabbits, mule, horse, rat, wildcat, dog, banteng, ferret, wolves, buffalo, deer, mountain goat, camel, coyote were obtained. Cattle are still the leader in the production of cloned offspring with the efficacy 10 % on average, and in some cases up to 25 %, while for most other animals it does not exceed 1 %. Under controlled conditions in farms with good management, the productivity of clones should vary only within the remaining natural variability and mitochondrial genetic variability due to cloning technology.

Keywords: somatic cells cryobanks, cloning, biodiversity, animal genetic resources.

Адрес сайта журнала в Интернете — www.agrobiology.ru

Статьи, события, информация — 7500 просмотров за месяц

73 % — посетители из России, около 7 % — из США и Канады, 20 % — из других стран



КАРТА САЙТА

Сообщаем, что...

- В правилах оформления направлений к представлению рукописей произошли изменения
 - На сайте открыт новый раздел — «Зарубежные публикации», в котором представлены публикации авторов журнала в зарубежных изданиях
 - Изменился фактический адрес редакции. Корреспонденцию можно отправлять по адресу: 127434, Москва, Дмитровское шоссе, д. 11, оф. 343.
- Динамичное развитие и высокий уровень публикаций определяют интерес к изданию и его признание в научной среде. Читатели журнала — ученые не только из России и стран СНГ, но и из Бразилии, Великобритании, Германии, Испании, Китая, Швейцарии, Японии.
- с 1989 года журнал выходит двумя сериями:
 «Биология растений» (№№ 1, 3 и 5 — февраль, июнь и октябрь)
 «Биология животных» (№№ 2, 4 и 6 — апрель, август и декабрь)
- Индекс журнала в Объединенном каталоге «Российские и зарубежные газеты и журналы» — 70804.
- Подписка через Интернет-каталог.

От эксперимента — к практике



Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных культур

